ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 24, 2, 1990

УДК 576.895.122:575.3

© 1990

СТРУКТУРА КАРИОТИПОВ OPISTHIOGLYPHE RANAE, PARALEPODERMA BRUMPTI И SKRJABINOECES SP. (TREMATODA: PLAGIORCHIIDAE)

Р. Б. Пяткявичюте, Г. Й. Станявичюте, Р. П. Стенько

Дана характеристика кариотипов трех видов плагиорхид. В диплоидных хромосомных наборах *Opisthioglyphe ranae* и *Skrjabinoeces* sp. содержатся 22 элемента; кариотип *Paralepoderma brumpti* состоит из 20 хромосом. Несмотря на имеющиеся различия, кариотипы можно считать производными общего предкового набора хромосом. Обсуждены возможные пути дивергенции хромосомных наборов этих видов.

Существующая система трематод не может считаться удовлетворительной. Среди систематиков даже нет единого мнения на счет того морфологические признаки каких стадий развития — зрелых (мариты) или личиночных (церкарии) — должны составить основу систематики (Cable, 1974; Gibson, 1981).

Серьезной проблемой является и установление видовых критериев трематод, так как морфологические признаки очень изменчивы и не всегда могут быть использованы в диагностических целях (Быховская, Гинецинская, 1973; Краснолобова, 1987).

Для решения этих проблем эффективными могут оказаться цитогенетические исследования. Сравнительно-кариологический анализ хромосомных наборов дает возможность не только найти критерии для дифференциации близких видов, но часто позволяет судить и о филогенетических связях между таксонами. Использование кариологических данных для решения проблем филогении дает хорошие результаты в тех случаях, когда имеется возможность установить характер и направленность хромосомных перестроек в пределах изучаемого таксона и когда прослеживается корреляция между степенью кариологических различий и систематическим рангом групп.

Нами проведен анализ кариотипов трех видов трематод, относящихся к сем. Plagiorchiidae — одному из крупнейших и систематически сложных семейств. Целью анализа была попытка выявить общие характеристики хромосомных наборов этих видов, указывающие на их филогенетическое родство, и определить пути и степень дивергенции кариотипов. Данные о хромосомных наборах имеют ценность и как видоспецифический признак.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Изучались хромосомные наборы клеток партенит. Источником материала послужили естественно зараженные моллюски. Кариотип *O. ranae* изучен у партенит, полученных от 3 экз. *Lymnaea stagnalis; P. brumpti* и *Skrjabinoeces* sp. изучены от 21 и 7 экз. *Planorbis planorbis* соответственно. Моллюски собраны в разных водоемах в окрестностях г. Симферополя (Крым) летом 1987 г.

Моллюсков не менее чем на 3 ч помещали в 0.01%-ный раствор колхицина. Кроме того, крупным лимнеидам вводили 0.05%-ный раствор колхицина в расчете 1 мл на 100 г массы моллюска (для большего митостатического воздейст-

Таблица 1

Измерения и классификация хромосом *Opisthioglyphe ranae*

№ пар хромосом	Абсолютная длина, в мкм		Относительная длина, в %		Центромерный индекс		Классификация
	M	*m*	*M*	*m*	*M*	*m*	
1	14.21	0.75	19.91	0.26	42.22	0.64	м
2	8.81	0.54	12.38	0.21	10.69	0.72	а
3	8.32	0.48	11.72	0.13	37.93	0.54	м
4	8.00	0.54	11.22	0.12	11.36	0.80	а—ст
5	7.29	0.48	10.23	0.16	12.89	0.57	ст—а
6	5.07	0.29	7.14	0.09	19.05	0.81	ст
7	4.51	0.22	6.38	0.11	30.59	1.06	см
8	4.17	0.25	5.87	0.04	31.39	1.00	см
9	3.94	0.23	5.53	0.04	27.07	0.92	см
10	3.61	0.22	5.07	0.04	25.52	0.66	см—ст
11	3.22	0.14	4.56	0.12	34.74	1.13	см

Примечание. Здесь и в табл. 2—3: м — метацентрическая, см — субметацентрическая, ст — субтелоцентрическая, а — акроцентрическая хромосома; *M* — средняя арифметическая, *m* — ошибка средней.

вия на клетки партенит). Отпрепарированные кусочки тканей моллюсков с партенитами трематод для гипотонии помещали на 1 ч в дистиллированную воду, которую меняли трижды. Фиксировали в свежеприготовленном фиксаторе Карнуа. Препараты готовили методом высушивания мазков на пламени и красили в 4%-ном растворе красителя Гимзы (Kligerman, Bloom, 1977; Баршене, 1981).

Кариометрический анализ проводили на кариотипах, составленных из микрофотографий метафазных пластинок с хорошим разбросом хромосом. Было отобрано по 10 метафазных пластинок каждого из трех видов. Определяли абсолютную длину хромосом в мкм, относительную длину в процентах и центромерный индекс. Классификацию хромосом осуществляли согласно методу Левана и соавторов (Levan e. a., 1964).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кариотип *O. ranae* состоит из 22 хромосом (рис. 1). Хромосомы крупные. Общая длина гаплоидного набора этого вида в среднем составляет 71.15 мкм (табл. 1). В кариотипе выделяется 1-я пара метацентрических хромосом, составляющая 19.91 % длины всего набора хромосом. Остальные хромосомы по размерам разделяются на две группы. Первую составляют 2—5-я пары хромосом

Таблица 2

Измерения и классификация хромосом *Paralepoderma brumpti*

№ пар хромосом	Абсолютная длина, в мкм		Относительная длина, в %		Центромерный индекс		Классификация
	M	*m*	*M*	*m*	*M*	*m*	
1	11.66	0.54	21.94	0.50	46.77	0.39	м
2	10.12	0.57	18.96	0.34	47.29	0.52	м
3	6.61	0.34	12.41	0.32	11.25	0.62	а
4	4.96	0.24	9.32	0.14	7.02	0.47	а
5	4.25	0.26	7.94	0.13	20.31	1.00	ст
6	3.65	0.28	6.80	0.22	33.58	0.82	см
7	3.38	0.16	6.36	0.11	46.57	0.61	м
8	3.12	0.13	5.88	0.09	37.56	0.84	м—см
9	2.89	0.12	5.46	0.10	44.13	0.68	м
10	2.62	0.11	4.93	0.12	40.71	0.64	м

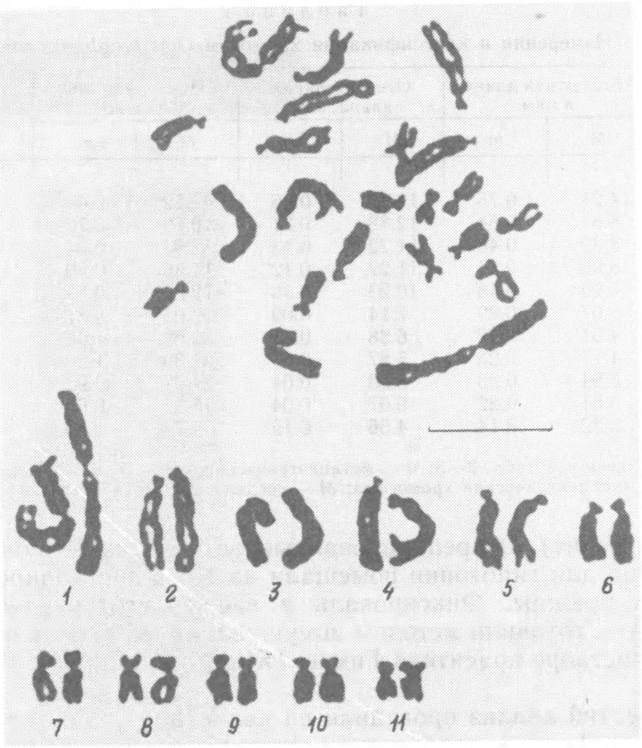

Рис. 1. Метафазная пластинка и кариотип *O. ranae*. Шкала — 10 мкм.

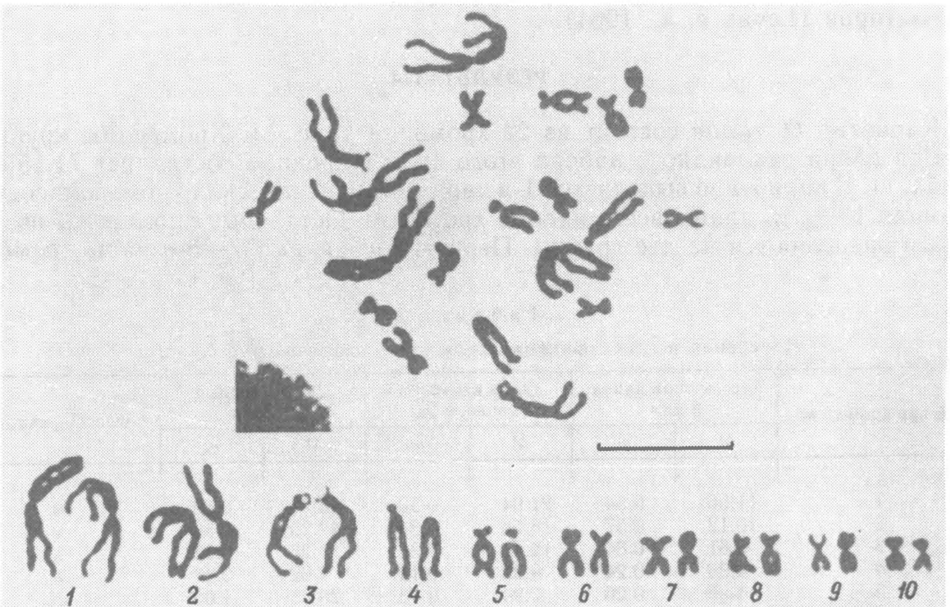

Рис. 2. Метафазная пластинка и кариотип *P. brumpti*. Шкала — 10 мкм.

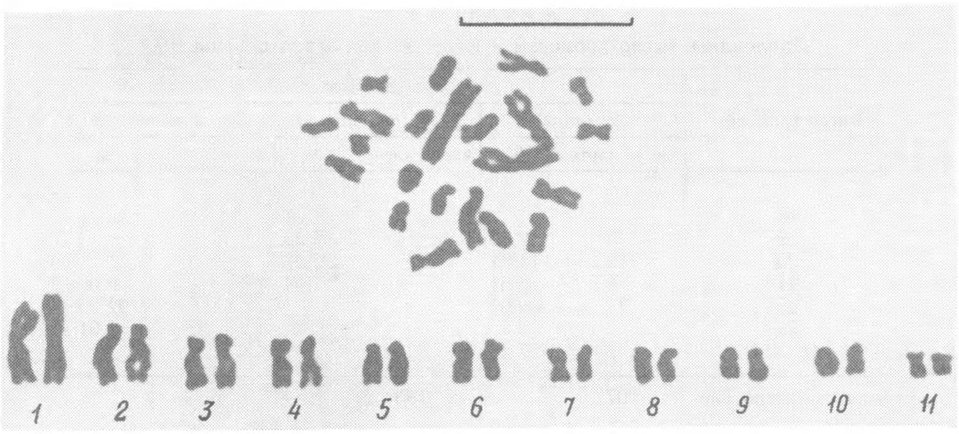

Рис. 3. Метафазная пластинка и кариотип *Skrjabinoeces* sp. Шкала — 10 мкм.

постепенно убывающей длины. Из них 3-я пара по значению центромерного индекса классифицируется как метацентрическая, остальные — 2, 4, 5-я пары — являются акроцентрическими или субтелоцентрическими элементами. Во вторую размерную группу входят более мелкие хромосомы 6—11-й пар. 6-я пара хромосом субтелоцентрическая, 7—11-я пары имеют субметацентрический тип строения.

Хромосомный набор *P. brumpti* включает 20 элементов. Хромосомы по своей абсолютной длине меньше, чем хромосомы *O. ranae*. Длина гаплоидного набора 53.26 мкм (табл. 2; рис. 2). Две первые пары крупных метацентрических хромосом составляют значительную часть генома — 40.9 %. 3-я пара довольно крупных хромосом представлена акроцентрическими элементами. Длина остальных хромосом набора (4—10-я пары) убывает постепенно. По значению центромерного индекса 4-я пара является акроцентрической, 5-я — субтелоцентрической, 6-я — субметацентрической, а остальные — 7—10-я пары — метацентрические.

В диплоидном наборе клеток *Skrjabinoeces* sp. содержатся 22 хромосомы (рис. 3). Они значительно меньше, чем хромосомы двух вышеописанных видов (табл. 3). Длина гаплоидного набора 25.09 мкм. 1-я пара самых крупных хромосом в кариотипе представлена метацентрическими элементами. Остальные хромосомы на размерные группы не подразделяются, так как их длина убывает довольно плавно. 2, 3-я пары по своей морфологии относятся к субтелоцентри-

Таблица 3

Измерения и классификация хромосом *Skrjabinoeces* sp.

№ пар хромосом	Абсолютная длина, в мкм		Относительная длина, в %		Центромерный индекс		Классификация
	M	*m*	*M*	*m*	*M*	*m*	
1	4.55	0.33	18.03	0.30	45.34	0.80	м
2	3.16	0.21	12.58	0.21	19.95	0.68	ст
3	2.68	0.16	10.70	0.13	24.95	1.31	ст
4	2.50	0.15	9.94	0.12	29.53	0.74	см
5	2.27	0.14	9.03	0.12	26.57	1.04	см
6	2.04	0.10	8.15	0.12	32.70	1.42	см
7	1.82	0.08	7.29	0.13	46.07	0.51	м
8	1.72	0.08	6.89	0.12	37.35	0.36	см—м
9	1.58	0.09	6.30	0.11	44.31	0.94	м
10	1.43	0.05	5.74	0.11	40.36	0.71	м
11	1.34	0.07	5.34	0.07	46.71	0.56	м

Таблица 4

Диплоидное число хромосом в клетках трех видов плагиорхид

Число хромосом	Вид гельминта					
	O. ranae		*P. brumpti*		*Skrjabinoeces* sp.	
	число клеток	%	число клеток	%	число клеток	%
18			2	1.04		
19	3	2.80	14	7.25		
20	12	11.21	175	90.67		
21	6	5.61	2	1.04	6	6.06
22	78	72.90			92	92.93
23					1	1.01
43—44	8	7.48				
Всего изучено клеток	107		193		99	

ческому типу хромосом, 4—6, 8-я являются субметацентрическими, 7, 9—11-я пары — метацентрические. Результаты подсчета числа хромосом в клетках этих видов представлены в табл. 4.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сем. Plagiorchiidae является прогрессивной ветвью филогенетического древа трематод и находится в периоде биологического расцвета. Это обстоятельство позволяет ожидать значительной вариабельности кариотипов, так как во многих случаях хромосомные перестройки играют важную роль в процессах видообразования и освоения новых экологических ниш.

Изученные нами виды относятся к разным родам, входящим в состав отдельных подсемейств сем. Plagiorchiidae. По структуре кариотипов видно, что степень их дивергенции значительна. Хромосомные наборы отличаются и по числу хромосом — $2n=22$ у *O. ranae* и *Skrjabinoeces* sp., $2n=20$ у *P. brumpti*, и по морфологии отдельных пар хромосом, и, что особенно заметно, по общей длине генома. Так, абсолютная длина гаплоидного набора *O. ranae* (71.15 мкм) почти в три раза превышает длину набора *Skrjabinoeces* sp. (25.09 мкм). *P. brumpti* занимает среднее положение по этому признаку (53.26 мкм). Видимо, у плагиорхид был выработан лабильный механизм, позволяющий быстро изменять размер генома в ходе приспособления к новым условиям среды.

Следует отметить, что хромосомы *O. ranae* являются самыми крупными из всех описанных до настоящего времени хромосом трематод. До сих пор крупнейшие хромосомы были обнаружены у *Transversotrema patialense* (Transversotrematidae) — до 12 мкм (Madhavi, Ramanjaneyulu, 1986). Кариотипы анализируемых видов отличаются и по размерной структуре хромосомных наборов. Так, при сравнении кариотипов *O. ranae* и *Skrjabinoeces* sp. с одинаковым числом элементов ($2n=22$) отмечено, что в кариотипе первого вида хромосомы по своей длине подразделяются на 3 группы: 1) 1-я пара самых крупных хромосом, 2) 2—5-я пары средних и 3) 6—11-я пары относительно мелких элементов. В кариотипе *Skrjabinoeces* sp. тоже выделяется 1-я пара хромосом, но остальные хромосомы набора составляют ряд по постепенно убывающей длине.

Примечательно, что в кариотипах всех трех видов первая пара хромосом представлена метацентрическими элементами, резко выделяющимися по своей относительной длине, которая составляет значительную часть общей длины геномов (18.03—21.94 %). Такие стабильные хромосомы, которые, переходя от вида к виду, сохраняют предковый облик, имеют важное значение при изучении филогении систематических групп, так как являются свидетельством их родства.

В кариотипе *P. brumpti* ($2n=20$) в отличии от кариотипов двух других видов имеется и 2-я пара крупных метацентрических хромосом. Видимо, редукция числа хромосом и формирование 20-хромосомного набора *P. brumpti* произошло путем робертсоновской транслокации двух одноплечих хромосом, а не в результате элиминации элементов набора.

Хотя корреляция между морфологической продвинутостью или примитивностью видов и организацией их кариотипов не всегда обнаруживается, но во многих кариотипически изученных группах организмов более «примитивные» виды имеют кариотип, состоящий преимущественно из одноплечих хромосом. После ответвления линий от основного эволюционного ствола происходит симметризация кариотипов, формирование «типичного» для каждой группы кариотипа из двуплечих хромосом. Такая тенденция эволюции кариотипов прослеживается, например, у некоторых позвоночных (Бирштейн, 1987).

Анализируя кариотипы трех видов плагиорхид, можно заметить, что степень их симметризации и число двуплечих хромосом — метацентрических (м) и субметацентрических (см) по отношению к субтелоцентрическим (ст) и акроцентрическим (а) увеличивается в следующем порядке: *O. ranae* (4 м+10 см+8 ст, а), *P. brumpti* (12 м+2 см+6 ст, а), *Skrjabinoeces* sp. (12 м+6 см+4 ст, а). В структуре кариотипа *Skrjabinoeces* sp. наибольшее число двуплечих элементов сочетается с наименьшей длиной генома — оба эти признака являются показателями большей специализации хромосомного набора этого вида по сравнению с двумя другими.

Для более наглядного сравнения кариотипов трех видов плагиорхид построены идиограммы по данным относительных длин и центромерных индексов, представленных в табл. 1—3 (рис. 4). Несмотря на значительные различия в структуре кариотипов, их можно считать производными одного общего предкового набора хромосом. В ходе эволюции этих кариотипов имели место такие

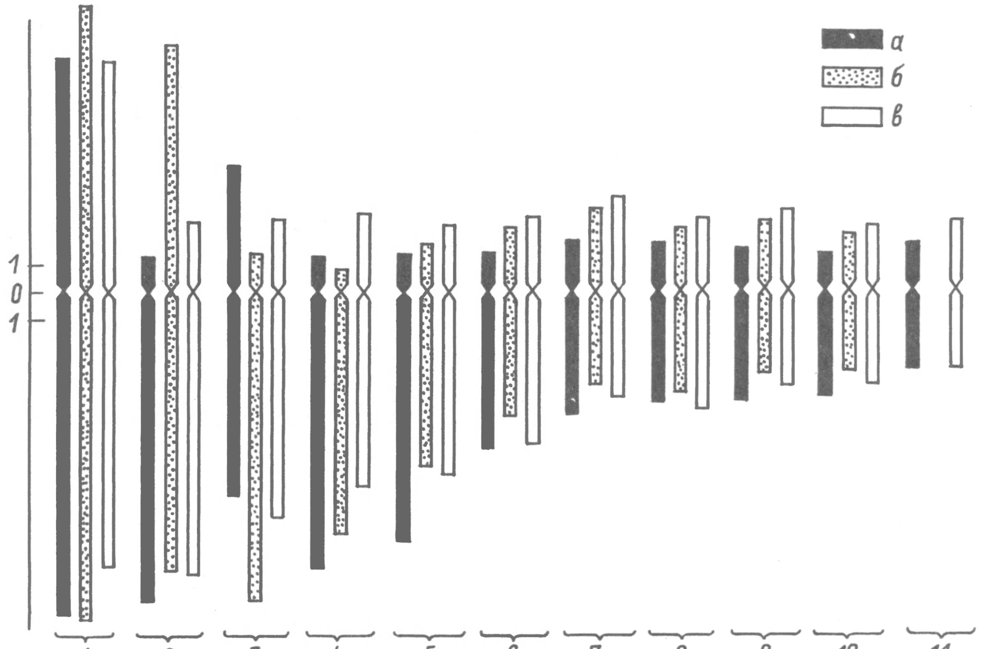

Рис. 4. Идиограммы хромосомных наборов.

а — *O. ranae*; *б* — *P. brumpti*; *в* — *Skrjabinoeces* sp. По оси ординат — относительная длина хромосом в %.

хромосомные перестройки, как робертсоновские транслокации, изменяющие число хромосом, перицентрические инверсии, изменяющие морфологию отдельных пар хромосом. Видимо, происходили и более сложные транслокации, приведшие к различиям размерной структуры хромосомных наборов. Важную роль также могли играть изменения количества повторяющихся последовательностей ДНК, что, скорее всего, явилось причиной вариабельности размера геномов.

В литературе имеются некоторые сведения о хромосомных наборах еще 8 видов плагиорхид, касающиеся в основном числа хромосом (Gresson, 1964; Subramanyam, Reddy, 1977). Большинство изученных видов сем. Plagiorchiidae в диплоидных наборах содержит 22 хромосомы. Тенденция к поддержанию определенного числа хромосом в кариотипах трематод одного рода и даже одного семейства отмечена ранее (Walton, 1959). Поэтому для дифференциации близких видов и для анализа филогенетических взаимоотношений нужны детальные кариометрические характеристики хромосомных наборов.

Список литературы

Баршене Я. В. Методические рекомендации по цитогенетическим исследованиям различных видов рыб в их ареалах // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. Ч. 4. Вильнюс, 1981. С. 86—95.

Бирштейн В. Я. Цитогенетические и молекулярные аспекты эволюции позвоночных. М.: Наука, 1987. 284 с.

Быховская И. Е., Гинецинская Т. А. Состояние и очередные задачи изучения Trematoda // Одиннадцатое совещание по паразитологическим проблемам. Л., 1973. С. 43—48.

Краснолобова Т. А. Трематоды фауны СССР. Род Plagiorchis. М.: Наука, 1987. 164 с.

Cable R. M. Phylogeny and taxonomy of trematodes with special reference to marine species // Symbiosis in the sea. Ed. W. B. Vernberg, Carolina Press, Columbia, 1974. P. 173—194.

Gibson D. I. Evolution of digeneans // Parasitology. 1981. Vol. 81. P. 161—163.

Gresson R. A. R. Oogenesis in the hermaphroditic Digenea (Trematoda) // Parasitology. 1964. Vol. 54. P. 409—421.

Kligerman A. D., Bloom S. E. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fisches // J. Fish. Res. Board. Can. 1977. Vol. 34. P. 266—269.

Levan A. K., Fredga K., Sandberg A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes // Hereditas. 1964. Vol. 52. P. 201—220.

Madhavi R., Ramanjaneyulu J. V. Observations on chromosomes and gametogenesis of Transversotrema patialense (Trematoda) // Parasitology. 1986. Vol. 92. P. 245—252.

Subramanyam S., Reddy V. P. The role of chromosomes in the taxonomy of some digenetic trematodes // The Nucleus. 1977. Vol. 20. P. 128—138.

Walton A. C. Some parasites and their chromosomes // J. Parasitol. 1959. Vol. 45. P. 1—20.

Институт зоологии и паразитологии АН ЛитССР,
Вильнюс;
Симферопольский государственный университет
им. М. В. Фрунзе

Поступила 24.03.1988

STRUCTURE OF THE KARYOTYPES OF OPISTHIOGLYPHE RANAE, PARALEPODERMA BRUMPTI AND SKRJABINOECES SP. (TREMATODA: PLAGIORCHIIDAE)

R. B. Petkevičiute, G. J. Stanevičiute, R. P. Stenko

SUMMARY

The karyotypes of three species of trematodes belonging to the family Plagiorchiidae are described. The diploid number of chromosomes of *O. ranae* and *Skrjabinoeces* sp. is 22. The karyotype of *P. brumpti* consists of 10 pairs of chromosomes ($2n=20$). The karyotypes are composed mainly of biarmed chromosomes. The first pair of chromosomes in all analysed karyotypes is represented by large metacentrics, which comprise the significant part of genome (18 to 22 %).

Comparison of numbers and morphology of chromosomes indicates that the karyotypes of these three species arose from one ancestral chromosome set. The possible evolutionary trends and mechanisms of divergence of karyotypes are discussed.